

**Zur Diagnostik der zellulär-geweblichen Immundefizienz:
Ein Vergleich der Kutanreaktion mit Recall-Antigenen
(MULTITEST^R Merieux) mit der Stimulierbarkeit
isolierter T-Lymphozyten (Messung der blastoiden
Transformierbarkeit durch die Einlagerung von ¹⁴C-Thymidin).**

Regina Rumland

*Diss
München
1985*

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Hygiene der Technischen
Universität München, Abteilung für Umwelthygiene und Impfwesen.
Leiter: Prof. Dr. med. H. Stickl

vorgelegt über das

Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchen-
medizin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Vorstand: Prof. Dr. Dr.h.c. mult. A. Mayr

ZUR DIAGNOSTIK DER ZELLULÄR-GEWEBLICHEN IMMUNDEFIZIENZ: EIN
VERGLEICH DER KUTANREAKTION MIT RECALL-ANTIGENEN (MULTI-
TEST^R MERIEUX) MIT DER STIMULIERBARKEIT ISOLIERTER
T- LYMPHOZYTEN (MESSUNG DER BLASTOIDEN TRANSFORMIERBAR-
KEIT DURCH DIE EINLAGERUNG VON ¹⁴C-THYMIDIN).

Inaugural- Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Regina Rumland
aus Dortmund

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan:	Prof. Dr. W. Leidl
Referent:	Prof. Dr. Dr.h.c. mult. A. Mayr
Koreferent:	Prof. Dr. H. K. Dennig

Tag der Promotion: 26. Juli 1985

Druck: Dissertationsdruck Novotny jr., 8135 Söcking/Starnberg

A.	EINLEITUNG	1
B.	SCHRIFTTUM	2
	Grundlagen der unspezifischen und spezifischen	2
	Abwehr eines Organismus	
	1. zelluläre und humorale Abwehr	2
	2. Paramunität	4
	3. Paramunisierung	6
	4. Paramunitätsmediatoren und -inducer	7
	5. die Lymphozytenstimulation und der	9
	¹⁴ C-Thymidintest	
C.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	11
	I. Methodik und untersuchte Patienten	11
	1. Beschreibung und Technik des	11
	¹⁴ C-Thymidintest	
	2. Beschreibung und Technik des	13
	Multitest ^R Merieux	
	3. Beschreibung der untersuchten Patienten	15
	4. Der Paramunitätsinducer PIND-AVI	16
	II. Eigene Ergebnisse	17
	1. Ergebnisse des ¹⁴ C-Thymidintest (Werte)	17
	Lymphozytenstimulierung bei Patienten	
	mit Immunsuppression	
	2. Ergebnisse des Multitest Merieux (Werte)	21
	3. Vergleich der Ergebnisse	22
	¹⁴ C-Thymidin-/MTM-Test	
	a. Statistik	22
	b. Grafischer Vergleich	24
D.	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	25
E.	ZUSAMMENFASSUNG	28
	Summary	29
F.	LITERATURVERZEICHNIS	30



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554811_0023

A. EINLEITUNG

Ein einfacher und nicht zu teurer Test, aus dem man eine erniedrigte unspezifische Abwehr (Resistenzlosigkeit, Immundefizienz) ablesen kann, wurde schon lange von der Praxis gefordert.

Mit der veränderten Altersstruktur und einer vielfach notwendigen eingreifenden Therapie, ferner mit dem Exponiertsein an verschiedene Umweltgifte ist in zunehmendem Umfang mit Abwehr- und Immundefekten zu rechnen (Infektions- und opportunistische Erreger, der sogenannte Keimhospitalismus u.a.). Deshalb war die Aufgabenstellung in dieser Arbeit wie folgt: inwieweit ist es möglich, zellulärgewebliche Immundefizienz mit einfachen Mitteln, ohne großen Laboraufwand zu diagnostizieren.

Beim Multitest^R Merieux wird die Reaktion des Organismus auf sogenannte Recall-Antigene getestet, - Antigene, mit denen der Organismus früher mit allergrößter Wahrscheinlichkeit in Kontakt gekommen ist und bei denen als Antwort auf die Antigenseinandersetzung eine Reaktion vom verzögerten Typ zu erwarten ist. Diese zellulär-gewebliche Reaktion wird aufgrund einer umfangreichen Empirie bei der positiven Tuberkulinprobe mit der Immunität gegen Tuberkulose in Analogie gesetzt. Was jedoch bei der Tuberkulose zutreffen mag, muß sich keineswegs bei anderen Recall-Antigenen bestätigen, zumal bei Kutanreaktionen auch anaphylaktoide Reaktionen ohne vorherige Sensibilisierung vorkommen können.

Es war daher notwendig, bei einer gewissen Anzahl von Patienten mit Immundefekten (z. B. nach zytostatischer Chemotherapie), welche durch die blastoide Transformierbarkeit isolierter T-Lymphozyten zusätzlich belegt sind, die Ergebnisse des Multitest^R Merieux mit der Reaktionsfähigkeit der T-Lymphozyten (¹⁴C-Thymidintest) zu vergleichen. Untersuchungen gleicher Art liegen bisher nicht vor.

B. S C H R I F T T U M

Grundlagen der unspezifischen und spezifischen Abwehr eines Organismus

Die Abwehr eines Organismus gegenüber körperfremden Stoffen, Noxen und Infektionserregern wie auch gegenüber "eigenen, aber körperfremd gewordenen Zellen und Substanzen" ist komplex und besteht aus einer Vielzahl eng miteinander verzahnter Mechanismen, die sich synergistisch wie antagonistisch beeinflussen. Grobschematisch unterscheiden wir zwischen antigenspezifischen und -unspezifischen Abwehrvorgängen.

Erstere führt zu einem spezifischen Schutz, der ganz allgemein als Immunität bezeichnet wird. Für die spezifische Abwehr stehen dem Warmblüter zwei funktionell unterschiedliche Mechanismen zur Verfügung: die Immunzelle als Substrat der zellulären Immunität und der Antikörper als Funktionsträger der humoralen Immunität.

1. Zelluläre und humorale Abwehr

Unter zellulärer Immunität versteht man nach Leonhardt (1981) jene Abwehrsituation des Organismus, die von Antikörper produzierenden Zellen vermittelt wird, deren Antikörper zellständig, das heißt an der Oberfläche, gebunden bleiben. Es handelt sich um die T-Lymphozyten und deren Abkömmlinge, die Immunozyten. Sie spielen eine entscheidende Rolle unter anderem bei der Abstoßung von Transplantaten und bei der Abwehr von Tumoren. Die humorale Immunität wird dagegen den Abkömmlingen der B-Lymphozyten, den Plasmazellen zugeschrieben, die den von ihnen produzierten humoralen Antikörper sezernieren, das heißt in Gewebe und Blut entleeren. Die humoralen Antikörper wirken hauptsächlich zum Beispiel bei der Abwehr von bakteriellen

Infekten.

Beide Immunsysteme haben ihren Ursprung in der lymphopoetischen Zellreihe. Durch Differenzierung lymphoider Stammzellen in den primären Lymphorganen entstehen je nach Art der Auseinandersetzung oder des Kontaktes mit freiem oder zellgebundenem Antigen bzw. körperfremden Zellen, Toxinen oder Schadstoffen während der Ontogenese der Immunsysteme die T-Lymphozyten als Träger der zellulären Immunität und die B-Lymphozyten, die für die humorale Abwehr verantwortlich gemacht werden. Aus den B-Lymphozyten entstehen durch Kontakt mit freiem Antigen oder durch Vermittlung von "spezifisch vorbereitetem Antigen" über T-Lymphozyten beziehungsweise deren Effektorzellen die verschiedenen Plasmazellen, deren Produkt die Antikörper sind.

Die erkenntnistheoretischen Fortschritte der Immunologie haben die Medizin der letzten Jahre geradezu revolutioniert. Dabei wurden immer mehr Zusammenhänge und Interaktionen mit Abwehrmechanismen aufgedeckt, die es einem Organismus ermöglichen, sich gegen verschiedene körperfremde Zellen, Schadstoffe und Erreger sowie gegen die schadstoffhaltige Umwelt auch unspezifisch zu wehren und einen zeitlich begrenzten Schutzzustand zu erlangen, der im Gegensatz zur Immunität gegenüber einer Vielzahl von ganz unterschiedlichen Antigenen wirksam ist. Das bedeutet: dieser Schutz ist unspezifisch. Für diesen Schutzzustand, der von der Immunität deutlich abzugrenzen ist, gibt es bisher keine einheitliche Begriffsbestimmung. Im Rahmen der Immunologie hat man hierfür Begriffe wie "unspecific immunity", "non specific immunity", "unspecific resistance", "erworbene Resistenz", "gesteigerte Resistenz", "erhöhte Abwehrkraft", "unspezifische Immunität" und ähnliche Wortschöpfungen gewählt. Bei diesem Sprachwirrwarr war es nötig, die Immunität als erworbenen spezifischen Schutz von dem erworbenen unspezifischen Schutz abzugrenzen und ihm einen neuen, einheitlichen Namen zu geben. So schlugen Mayr, Raettig, Stickl und Alexander 1979 vor,

dieses neue Fachgebiet, das sich aus der Immunologie ableitet und mit ihr eng verbunden ist, als Paramunologie zu bezeichnen.

2. Paramunität

Als Paramunität wird nach Mayr und Büttner (1984) der unspezifische Schutz von Individuen gegenüber unterschiedlichen Infektionen, Toxinen, Schadstoffen oder körperfremden bzw. transformierten, körpereigenen Zellen bezeichnet. Paramunität entwickelt sich innerhalb weniger Stunden und ist nur von kurzer Dauer (Tage bis Wochen).

Die funktionellen Grundlagen der Paramunität sind komplex, müssen aber nicht immer gleich sein; in der Regel wirken mehrere Aktivitäten synergistisch zusammen.

Bei Bestehen einer Paramunität ist die Phagozytose gesteigert, und es kommt zu einer Stimulierung humoraler Abwehrfaktoren, insbesondere von Lysozym, Properdin, Komplement, Opsonin und IgM-Antikörpern (Pospischill, 1976; Mayr und Sailer, 1977; Eisele, 1978; Himmer, 1978). All diese Vorgänge führen zu einer Erhöhung der Phagozytoseaktivität, zu einer besseren Erkennung, Aufnahme und Vermittlung von Antigenen - besonders an T-Lymphozyten - und damit zu einer schnelleren Entwicklung der von den antigen-spezifisierten T-Zellen abstammenden Killerzellen, Effektorzellen, Memoryzellen, Helferzellen und T-Suppressorzellen, die zusammen mit den B-Lymphozyten den Immunmechanismus regeln. In Verbindung damit führt die Stimulierung des lymphopoetischen Zellsystems (Mayr und Sailer, 1977; Mayr et al., 1977), besonders der T-Lymphozyten, gleichzeitig nicht nur zu einer schnelleren und stärkeren Reaktion mit spezifischen Antigenen, sondern auch zu einer Funktionssteigerung bereits antigen-spezifisierter T- und B-Lymphozyten, wobei sich die Stimulierung der T-zellabhängigen Suppressorzellen regulatorisch günstig auswirkt. (Mayr et al., 1979).

Tab. 2: Definition von Paramunität

(nach Mayr, Raettig, Stickl und Alexander, 1979)

Funktionelle Grundlagen des Schutzes

1. Steigerung der Infektabwehr:

Erhöhung der Phagozytose

Stimulierung humoraler, antigenunspezifischer Faktoren

Stimulierung zellulärer Enzyme

2. Aktivierung des lymphopoetischen Systems:

speziell Stimulierung von T-Lymphozyten (Proliferations- und Aktivitätssteigerung)

3. Stimulierung der spontanen zellvermittelten Zytotoxizität

Aktivitätserhöhung der normalen Fähigkeit bestimmter mononukleärer Zellen, geeignete Zielzellen direkt zu lysieren

4. Produktion und Freisetzung von Interferon

5. Produktion und Freisetzung einer Vielzahl von Mediatoren

Übertragbarkeit

zellfrei, auch passiv von der Mutter auf den Foet beziehungsweise das Neugeborene (Mayr und Büttner, 1984)

Booster- Effekt

nach Absinken der erhöhten Körperfunktion keine spezifische Gedächtnisreaktion

Trainingseffekt

antigen-unspezifisch

Die Stimulierung der verschiedenen Systeme, die für die Paramunität verantwortlich sind, kann auf natürliche Weise durch Auseinandersetzung mit der keim- und schadstoffhaltigen Umwelt, beziehungsweise künstlich durch Applikation von entsprechenden Arzneimitteln erfolgen. Nach Mayr und Büttner (1984) ist das

Geschehen, das im Endeffekt zu dem gewünschten unspezifischen Schutz führt, ein mehrstufiges:

zuerst treten sogenannte Effektorzellen in Tätigkeit, die je nach Art des Stimulus entsprechende Mediatorsubstanzen produzieren und in löslicher Form freigeben. Diese Mediatorsubstanzen aktivieren dann in einer weiteren Reaktionsstufe die entsprechenden Zielzellen, die durch ihre Reaktion letztlich für die Erhöhung der körpereigenen Abwehr verantwortlich sind. Derartige Zielzellen der unspezifischen Abwehr sind Makrophagen, beziehungsweise deren entsprechende Subpopulationen, zytolytische T-Lymphozyten und natürliche Killerzellen sowie die Reihe der Helfer- und Suppressor-T-Lymphozyten.

3. Paramunisierung

Alle medikamentösen Maßnahmen, die eine Paramunität induzieren, also die die nicht antigenspezifische Abwehr in einem Organismus erhöhen, werden als Paramunisierung bezeichnet. Dazu gehört zum Beispiel auch die paraspezifische Wirkung von Schutzimpfungen. Bereits E. Jenner machte auf Wechselbeziehungen zwischen Herpes und Pockenschutzimpfung aufmerksam. Robert Koch und viele seiner Zeitgenossen wiesen bei verschiedenen Schutzimpfungen mit bakteriellen Impfstoffen einen Hemmeffekt gegen andere Infektionserreger nach. Gegen Ende des vorigen Jahrhunderts, als in relativ kurzer Zeit ein Impfstoff nach dem anderen der Praxis zugeführt wurde, versuchte man die Schutzimpfung über ihre paraspezifische Wirkung therapeutisch zu nutzen (Kurschilgen, 1969). Mit der Entdeckung der Chemotherapie und der Antibiotika trat diese Forschungsrichtung dann jedoch stark in den Hintergrund und wurde erst in den letzten Jahren durch den zunehmenden Panoramawechsel in der Infektionsmedizin und durch den generellen Gestaltwandel von Infektionen wieder interessant. Entsprechend sind in der letzten Zeit auch Schutzimpfungen

vermehrt paraspezifisch angewandt worden, z. B. die Pocken-Schutzimpfung zur Therapie von Herpes simplex, die BCG- Impfung als Zusatztherapie bei Tumoren oder in der Tiermedizin die Impfung mit IBR-IPV-, Mucosal- disease-, Parainfluenza-3- und Newcastle-Vaccinen gegen Rinder Grippe, Crowding disease und andere infektiöse Faktorenkrankheiten. Das Wissen um die Ursache-/Wirkungsrelationen bei einer natürlich, das heißt z.B. durch Schutzimpfung, Reiztherapie und Interferonisierung induzierten Paramunisierung führte dazu, daß sich heute mehr und mehr Laboratorien damit beschäftigen, Paramunität gezielt medikamentös, unter Umgehung einer Schutzimpfung, das heißt ohne nachfolgende Immunität zu erzeugen. Diese Medikamente, die zum Zwecke einer Paramunisierung verabreicht werden, sind Paramunitätsinducer oder -mediatoren (Mayr, 1979; Reubel, 1983).

4. Paramunitätsmediatoren und -inducer

Paramunitätsmediatoren sind nach Büttner (mündliche Mitteilung) Arzneimittel, die befähigt sind, bestimmte Zellpopulationen, Zellmechanismen der unspezifischen Abwehrsysteme sowie andere eng miteinander verbundene funktionelle Systeme zu bestimmten Reaktionen und Interaktionen oder zur Synthese von reaktiven Verbindungen anzuregen, die für die Paramunität verantwortlich sind.

Paramunitätsinducer sind Arzneimittel, die dazu bestimmt sind, bei Mensch und Tier zur Erzeugung von körpereigenen Abwehr- und Schutzstoffen sowie von körpereigenen Abwehrreaktionen im Sinne einer Paramunisierung angewendet zu werden (Mayr und Büttner, 1984). Von der Praxis wird gefordert, daß Paramunitätsinducer weder als Antigene noch als Antikörper wirksam sind, die Antigene also weder positiv noch negativ beeinflussen. Das heißt, sie dürfen die Antigene in ihrer Wirkung weder unmittelbar potenzieren noch unterdrücken; sie sollen die Abwehrschwächen

eines Organismus da ausgleichen, wo es nötig ist, also Dysregulationen dieser Art "normalisieren". Sie sollen schnell resorbierbar und schnell metabolisierbar, gleichzeitig aber möglichst wenig schädlich sein und keine Rückstände hinterlassen. Grundsätzlich hat man bei den Inducern zwischen chemischen und biologischen zu unterscheiden. Da viele biologische Inducer den Nachteil haben, daß sie schwer standardisierbar sind und ihre Verabreichung oft mit unangenehmen Nebenerscheinungen wie Toxizität, Pyrogenität u.ä. verbunden ist und fast durchweg komplex wirken, ist man bemüht, exakt definierbare chemische Inducer zu finden, die die Anforderungen erfüllen, die an Paramunitätsinducer gestellt werden. Das stößt jedoch im Moment auf viele noch zu lösende Probleme wie Teratogenität, Onkogenität, Toxizität, Resorbierbarkeit, Rückstände, Toleranzgrenze, Löslichkeit und damit Applikationsmodus (Mayr, Raettig, Stickl und Alexander, 1979).

PIND-AVI stellt einen biologischen Inducer dar. Seine Grundlage bildet ein durch zahlreiche Zellkulturpassagen attenuiertes Avi-pox-Virus (Stamm HP- 1), das für den Säugetierorganismus heterolog ist und sich in ihm nicht vermehren kann. Für Vögel ist es avirulent. Zur weiteren Verarbeitung wurde es gereinigt und durch Gamma-Strahlen inaktiviert, wodurch sich gleichzeitig seine Wirksamkeit bei Mensch und Säugetier erhöhte (Mayr et al., 1979).

Als Wirkungsmechanismen von PIND-AVI sind bisher bekannt geworden: eine Aktivierung der Makrophagen (Mayr et al., 1977; Himmer, 1978), eine Induktion der Bildung bzw. Freisetzung von endogenem Interferon (Mayr et al., 1977; Pospischill, 1978) und ein erregerspezifischer Schutz gegenüber unterschiedlichen viralen und bakteriellen Infektionsmodellen (Mayr et al., 1977; Himmer, 1978; Pospischill, 1978). Nach Stickl und Mayr (1979) führte die Applikation von PIND-AVI zu einer selektiven

T-Lymphozytenstimulation bei Mensch und Tier. Sie zeigten, daß mit diesem Präparat eine durch zytostatische Chemotherapie sowie durch andere Faktoren bedingte selektive T-Zellunterfunktion verbessert beziehungsweise normalisiert werden kann. Entsprechend dieser Stimulationswirkung auf das zellulär-gewebliche Abwehrsystem hat sich PIND-AVI in der Praxis bereits zur Therapie von Herpes Zoster (Mayr et al., 1977), von Nasennebenhöhlen-Erkrankungen (Westhues, 1975; Westhues und Mayr, 1975) und viralen Mischinfektionen (Stickl, 1977) beim Menschen (Mayr et al., 1977) und in der Tiermedizin zur Bekämpfung des Welpensterbens (Herpes-Infektion) und der Crowding-disease bei der Kälber- und Bullenmast (Bibrack, 1975; Witzigmann, 1978a,b) bewährt.

5. Die Lymphozytenstimulation und der ^{14}C -Thymidintest

Die Transformation von Lymphozyten (Ausbildung von Blasten und mitotische Multiplikation), die in vivo durch Antigenkontakt induziert wird, kann auch in vitro durch die Inkubation isolierter T-Lymphozyten mit Antigenen oder Mitogenen (Substanzen, die durch ihre transformierende Wirkung auf Lymphozyten charakterisiert sind) ausgelöst werden, wobei die mitogene Stimulierbarkeit in vitro keine Antigenität voraussetzt.

Als klassische Mitogene stehen die Phytomitogene, globulinähnliche, aus Pflanzen extrahierbare Eiweißkörper, auch "Lektine" genannt, zur Verfügung.

Die mitogene Wirkung von Phytohämagglutinin (PHA), einem Glykoprotein aus *Phaesolus vulgaris*, wurde zuerst von Hungerford et al. (1959) und Nowell (1960) beschrieben. PHA galt bisher als selektives T-Zell-Mitogen. Nach Phillips und Roitt (1973) lassen sich jedoch auch B-Lymphozyten des Menschen in konventionellen Kulturen durch PHA stimulieren, während Greaves und Bauminger (1972) erst durch die Bindung an Sepharose-Kügelchen eine Wirkung auf B-Zellen erzielen konnten.

Wie wirken die mitogenen Substanzen? Nach Anlagerung der Mitogenmoleküle (Liganden) an die zunächst mobil und gleichmäßig in Mikroaggregaten auf der Oberfläche der Lymphozyten verteilten Ig-Moleküle (Rezeptoren), kommt es oberhalb 20°C innerhalb eines temperaturabhängigen Zeitraumes (Taylor et al., 1971) zur Konzentration der Liganden-Rezeptor-Komplexe an einem Zellpol ("capping" genannt). Gleichzeitig mit der Kappenbildung kommt es zu einem Anstieg des Membranphospholipidumsatzes und zur Aktivitätserhöhung membranassoziierter Enzyme.

Die Folge dieser Membranprozesse, die ausschlaggebend sind für die Induktion einer Transformation (Andersson et al., 1972), ist eine Erhöhung des intrazellulären Spiegels an Cyclo-AMP, sowie eine Neuverteilung der lysosomalen sauren Hydrolasen. Im Kern ist eine Zunahme der Proteinsynthese, die Aktivierung der RNS-Synthese, sowie eine Aktivitätssteigerung mehrerer Enzyme (Uridinkinase, Ornithincarboxylase, RNS- und DNS-abhängige Polymerase) zu verzeichnen (Pawlas, 1979). Eine Steigerung der DNS-Synthese tritt nach 24 Stunden auf. Der Einbau des ¹⁴C-Thymidin erfolgt in die DNS.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Methodik und untersuchte Patienten

1. Beschreibung und Technik des Lymphozytentransformationstestes (^{14}C -Thymidintest)

Nach der modifizierten Methode von Junge et al. (1970) wurde menschliches heparinisiertes Vollblut (50 E Heparin/ml) in Mengen von je 0,20 ml in 10 ml Kulturgläschen aufgeteilt. Die Röhrchen enthielten als Vorlage 1,8 ml Kulturmedium folgender Zusammensetzung:

80% RPMI* 1640 (Flow), 20% inaktiviertes foetales Kälberserum (Flow) und 100 μ Neomycin/ml. Die folgenden Antigene wurden pro ml Kulturserum zugegeben:

1. Phytohämagglutinin (PHA) M 20 μ /ml und ein zweiter Ansatz von 30 μ /ml (PHA- M Difco)
2. Tuberkulin 25 E/ml (Tuberkulin GT, Stärke 100, Behringwerke) in stabilisatorfreiem PBS gelöst.

Jede Kultur mit den betreffenden Antigenen wurde dreifach angesetzt. Die Kontrollkulturen enthielten kein Antigen. Die Kulturröhrchen wurden fest verschlossen und insgesamt 4 Tage bei 37° C in vertikaler Lage inkubiert.

Bestimmung der Lymphozyten:

24 Stunden vor der Zellernte wurden die Anzahl der lebenden Lymphozyten bestimmt und die Kulturen mit 0,2 λ Ci ^{14}C -Thymidin/ml Kulturmedium markiert (Amersham- Buchler). Die Zellkultur wurde beendet durch Zugabe von 0,045%iger kalter Saponinlösung (Saponin in physiologischer NaCl-Lösung) zu jedem Röhrchen à 4 ml. Nach Zerstörung der Erythrozyten wurden die Kulturen abzentrifugiert (15 Minuten, 1500 g) und der hämolytische Überstand verworfen. Die Leukozyten wurden mit 4 ml NaCl-Lösung

* RPMI = Rosewell Park Memorial Institute

gewaschen und anschließend 15 Minuten bei 1500 g abzentrifugiert. Danach wurde das Sediment in 1 ml einer 0,1n NaOH-Lösung aufgelöst und nach Zugabe von 4,5 ml einer 6,7% Trichloressigsäure-Lösung über Nacht bei 4° C stehengelassen. Zentrifugation (15 Min., 2500 g und nochmalige Fällung in 5 ml einer 5% Trichloressigsäurelösung). Das Sediment wurde dann in 1 ml Soluene 350 gelöst (Packard, Frankfurt/Main) und mit 12,0 ml Insta-Gel für Szintillationsmessung überspült.

Messung:

Die Aktivität der Proben wurde mit dem Packard-Liquid-Szintillations-Counter 3 mal 10 Minuten gemessen und nach Abzug des Leerwertes in Impulse/min. angegeben.

Die Stimulationsrate wird aus der Aktivität der antigen-stimulierten Kultur zu den Spontantransformationen berechnet. Die Spontantransformationen werden gleich 1 gesetzt. Alle im folgenden benannten Werte sind auf den Index 1 bezogen.

Werte:

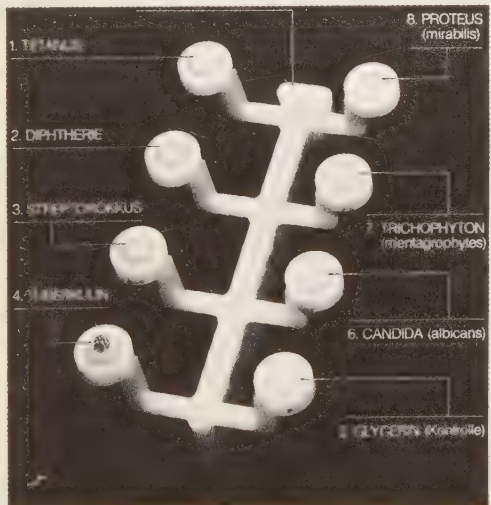
Der normale Stimulationsindex wurde aus den Werten von 21 gesunden Personen (keine Krankheiten, keine Isolation, keine Intoxikationen, keine Gravidität) im Alter von 20-50 Jahren (9 weiblich, 12 männlich) berechnet. Es ergab sich ein Index von $240 \pm 2,1$ nach Stimulation der Zellkulturen mit PHA- M.

Zur Korrektur des Alters (die normale Transformationsrate nimmt ab 50 Jahren im 10-Jahresrhythmus jeweils um 10% ab) wurde der in jedem Alter jeweils optimale Wert des Stimulationsindex einem Wert von 100% gleichgesetzt. Somit ergab sich eine bessere Vergleichsmöglichkeit der Ergebnisse.

2. Beschreibung und Technik des Multitest^R Merieux

Die Hautreaktion vom verzögerten Typ wird mit 7 standardisierten Antigenen untersucht. Ein Testkopf enthält jeweils 1 Tropfen (0,03 ml) in Glycerin (70% G/V) gelöstes Antigen; diese sind im folgenden beschrieben:

1. Tetanus Toxoid
550 000 E/ml
2. Diphtherie Toxoid
1 100 000 E/ml
3. Streptokokken Antigen
2 000 E/ml
4. Alttuberkulin
300 000 E/ml
5. Glycerin (Kontrolle) 70%
6. Candida Antigen (*albicans*)
2 000 E/ml
7. Trichophyton Antigen
(*mentagrophytes*) 150 E/ml
8. Proteus Antigen (*mirabilis*)
150 E/ml



(Nr. 3, 6, 7, 8 sind inaktivierte Antigen-Extrakte)
Die Kontrolle enthält nur Glycerin.)

Abb. 1 Plastikstempel Multitest^R
Merieux

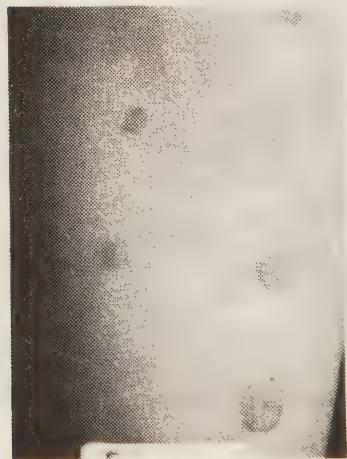
Die Applikation der Antigene erfolgt intrakutan durch die Spitzen eines Plastikstempels, der die simultane Applikation aller 7 Antigene möglich macht (siehe Abb. 1).

Unabhängig vom Anwendungsort (Vorderseite des Unter- oder

Oberarmes, auf den Schenkeln innen oder außen, paravertebral auf dem Rücken - in jedem Fall aber auf gesunder Haut) sollte der "Merieux-Stempel" standardisiert mit dem T- förmigen Ende in Richtung Patientenkopf erfolgen.

Nach 48 Stunden wird die Hautreaktion abgelesen. An jedem Reaktionsort wird aus zwei aufeinander senkrechten Durchmessern einer Hautinduration das arithmetische Mittel gebildet, wobei es darauf ankommt, nicht das Erythem, sondern nur die Induration zu messen (siehe Abb. 2).

Eine Reaktion ist dann als positiv zu werten, wenn der mittlere Durchmesser 2 mm oder mehr beträgt.



Die Summe aller mittleren Durchmesser der positiven Reaktionen bildet das Score. Es gilt als Maß für die aktuelle Abwehrlage des Patienten. Durch statistische Auswertung der Ergebnisse einer multizentrischen Studie mit Normalpersonen wurde ein geschlechtsspezifisches "kritisches Ablesungsergebnis" erarbeitet. Die statistische Berechnung erfolgte mit dem Wilcoxon- Test für unverbundene Stichproben (s. Tab. 1).

Abb. 2 Hautreaktion eines Kontrollprobanden

Tab. 1 Klinische Normalwerte des Haut-Score geschlechtsspezifisch für das Alter von 16-65 Jahren

Männer:	Score	$\geq$	15 mm
Frauen:	Score	$\geq$	10 mm

Werte unter diesem Score wurden als hyperg, Patienten mit einem Score ≤ 2 galten als anerg (Dürig, Heberer und Harder, 1982).

3. Beschreibung der untersuchten Patienten

Insgesamt 22 Patienten - alle behandelt mit dem weiter unten zu beschreibenden Paramunitätsinducer PIND-AVI -, davon 16 Patienten im Verlauf beziehungsweise nach einer adjuvanten zytostatischen Therapie nach Tumoroperationen (13 davon weiblich, 3 männlich) und 6 Patienten (alle männlich) mit T-Lymphozytendefekt anderer Genese, wurden im Zeitraum von Januar bis einschließlich August 1983 mit insgesamt 48 Mehrfachbestimmungen der Lymphozytenstimulationswerte und insgesamt 47 Doppel- bzw. Mehrfachbestimmungen im Multitest^R Merieux untersucht. Die Patienten waren im Alter von 16 bis 68 Jahren.

4. Der Paramunitätsinducer PIND-AVI

PIND-AVI ist ein biologischer Paramunitätsinducer, der aus einem für Mensch und Säugetier heterologen, in Zellkulturen aus primären Hühnerembryofibroblasten (FHE) vermehrten Avipox-Virus hergestellt wird. Das Virus geht auf den Hühnerpockenstamm HP-1 zurück (Mayr und Kalcher, 1970), der über fortlaufende Passagen in FHE-Kulturen attenuiert und nach der 438. Passage in Valo-Eiern (leukosefreien Eiern) plaquegereinigt wird (Mayr, Bachmann, Bibrack et al., 1974; Mayr und Malicki, 1966). Nach der 3. Plaque-Passage wird das geerntete Virus in FHE-Kulturen vermehrt. Dieses ist das Saatvirus für PIND-AVI und hat einen Titer von $10^{7,75}$ bis $10^{8,5}$ KID₅₀/ml (Mayr, 1978; Mayr, Stickl, Westhues et al., 1977). Für die Herstellung des Inducers wird das Saatvirus in stationär bebrüteten FHE-Kulturen (Medium: Earle MEM) vermehrt. Die Virusernten werden durch Ultraschall aufgeschlossen, danach wird das Virus, den üblichen Kriterien entsprechend, auf Freisein von Fremdviren, Bakterien, Pilzen und Mykoplasmen geprüft, gereinigt (Entfernung des Zelldetritus durch Sedimentation bei 800 g). Die Inaktivierung erfolgt durch Gammastrahlen in 100 ml- Industrieflaschen bei 1400,0 Krad. Die Bestrahlungszeit richtet sich nach der Dosisleistung der Co-Quelle.

II. Eigene Ergebnisse

1. Ergebnisse des ^{14}C -Thymidintest - Lymphozytenstimulierung bei Patienten mit Immundefizienz

Bei allen Patienten mit Immundefizienz ließ sich nach Gabe von PIND-AVI gegenüber den Kontrollpersonen die Stimulierbarkeit isolierter T- Lymphozyten nachweisen. Der normale Stimulationsindex, bezogen auf das jeweilige Alter und somit umgerechnet in Prozent, liegt zwischen 80% und 120%. Bei Patienten mit Werten unter 80% liegt eine Immundefizienz vor, bei Werten über 120% zeigt sich eine ebenso nicht normale Hyperreaktion der T- Zellen.

Von den von Januar bis August 1983 besonders überprüften Patienten mit T-Lymphozytendefekt wurden 16 Patienten wegen eines operierten Malignoms (siehe Tab. 3) mit einer adjuvanten zytostatischen Chemotherapie (5-Fluorouracil, Methotrexat, Endoxan, Cortison, Dacabacin) im therapiefreien Intervall mit PIND-AVI behandelt.

Die Chemotherapie wurde bei allen Patienten hinsichtlich Indikation, Dosierung und Rhythmus andernorts vorgenommen. Die Applikation von PIND-AVI sowie die vorliegenden Untersuchungen sind im Institut für Mikrobiologie und Hygiene der Technischen Universität München, Abteilung für Umwelthygiene und Impfwesen erfolgt.

Tab. 3

Stimulationsindices der Lymphozyten nach Stimulation mit Phytohämagglutinin (PHA) in % über einen Behandlungszeitraum mit PIND-AVI von ≤ 30 Wochen

Patient	Alter / Geschlecht	Entwicklung des PHA- Index in %	Bemerkung und Diagnose
1. H.B.	60 J. m.	65,2 %	Operation mal. Melanom, Lindenblütenallergie
2. I. B.	51 J. w.	77,8 % $\rightarrow$ 41,4% $\rightarrow$ 48,9% $\rightarrow$ 40,9% $\rightarrow$ 75,9%	Operation Mamma-Carcinom Chemotherapie, Cortison
3. A. Ch.	57 J. w.	34,7%	Operation Mamma-Carcinom Chemotherapie, Röntgen
4. Ch. E.	55 J. w.	81,0% $\rightarrow$ 72,7% $\rightarrow$ 102,5%	Operation Mamma-Carcinom
5. M. F.	60 J. w.	58,2% $\rightarrow$ 53,1% $\rightarrow$ 62,2% $\rightarrow$ 57,9% $\rightarrow$ 78,3%	Operation mal. Melanom
6. T. F.	63 J. w.	93,2%	Operation mal. Melanom
7. E. G.	47 J. w.	78,2%	Operation Mamma- Carcinom
8. V. H.	40 J. m.	56,0%	4 Rezidive, sehr infekтанfällig
9. H. J. H.	49 J. m.	71,0%	Myasthenia gravis, mal. Thymom Thyreoiditis de Quervain, T-Lymphozyten-Defekt
10. R. F. H.	57 J. m.	87,6%	rezidiv. Furunkulose

73,8% → 45,4%

36 J. w.

Operation Mamma-Carcinom
Knochenmetastasen, Hirnmetastasen,
Chemotherapie, Röntgen

13. G. H.

44 J. w.

52,1% → 64,1% → 76,2

Operation Ovarial-Carcinom
Rektum-Carcinom

14 .M.K.

49 J. w.

36,5% → 33,5% → 39,3%

Operation Mamma-Carcinom
Pleura infiltration, Chemotherapie,
Röntgen, Cortison, schwerer Verlauf

15. S. L.

67 J. m.

75,5%

Operation Sigma-Carcinom
Leber-Lunge-Metastasen
Chemotherapie

16. V. M.

46 J. m.

65,0%

Morbus Bechterew

17. G. M.

54 J. w.

78,4%

Operation Mamma-Carcinom
Chemotherapie, Röntgen, überall
Knochenmetastasen
Spontanfrakturen

18. B. M.

16 J. m.

72,2% → 58,6%

progressive spinale muskuläre
Atrophie

19. A. N.

68 J. m.

63,2% → 79,5% → 118,0% →
130,2%

Operation Rektum-Carcinom,
Leberinfiltration, Chemotherapie,
dann Prostatahypertrophie,
Operation, Lungenembolie

20. L. R.

55 J. w.

72,8% → 88,5%

Operation mal. Basalliom

21. I. S.

49 J. w.

51,6% → 54,6% → 68,6%

Operation Mamma-Carcinom
Chemotherapie

22. H. V.

62 J. w.

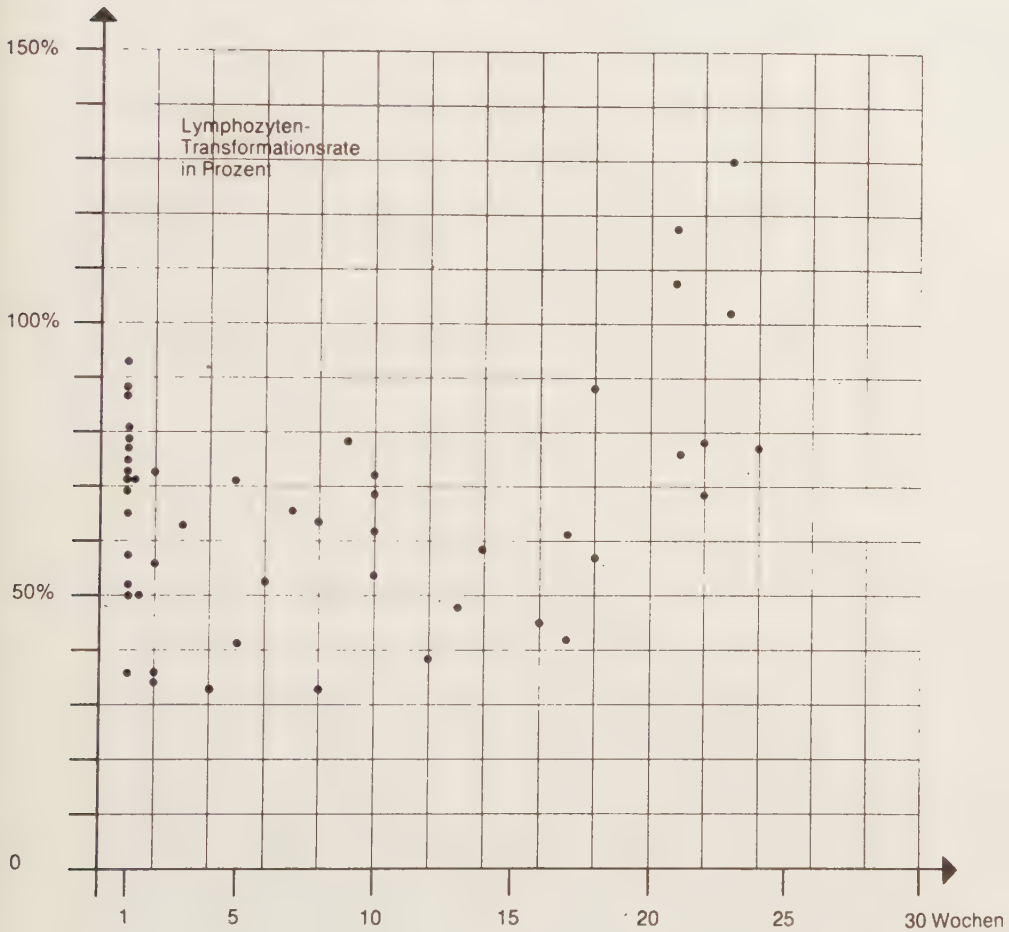
69,3% → 70,9% → 69,6% →
61,8% → 108,9%

Operation Ovarial-Carcinom,
Chemotherapie

Anmerkungen zu Tab. 3:

Der bei den Patienten 4, 5, 13, 14, 19, 20, 21 und 22 deutlich zu verzeichnende Anstieg der ^{14}C -Thymidintest-Werte zeigt, daß sich die durch Chemo- bzw. andere Therapieformen bedingte geweblich-zelluläre Resistenzsenkung durch die Verabreichung von PIND-AVI "reparieren" läßt. Mit Regeneration der T-Zellen kam es zur Besserung des Allgemeinbefindens und zum raschen Abklingen der klinischen Symptome, die im Rahmen der durch den T-Zellverlust bedingten Infektionsanfälligkeit entstanden waren (z.B. rezidivierende Infekte der oberen Luftwege, Sinusitis maxillaris, Konjunktivitis, Stomatitis, Herpes labialis, Herpes zoster, Soormykose der Vagina, u.a.)

Abb. 3 Entwicklung der Werte der Lymphozytentransformation
in % (^{14}C -Thymidintest) im Zeitraum von 30 Wochen
unter Einfluß von PIND-AVI



Erfäßt sind alle 22 Patienten

2. Ergebnisse des Multitest^R - Merieux (MTM-Test)

Die durch den in-vitro-Test mit ¹⁴C-Thymidin eindeutig nachweisbare erhöhte Reaktionsfähigkeit der T-Lymphozyten ist durch den in-vivo-Hauttest Multitest Merieux (Nachweis der Allergie vom Spättyp) nicht eindeutig und in allen Fällen gegeben.

Tab.4 Entwicklung des Score im MTM-Test bei denselben Patienten wie in Tab. 3. Mehrfachbestimmungen jeweils im Abstand von 14 Tagen.

Patient-Nr.	Geschlecht	$\bar{x}$ Score (mm)
1	w	13,5 → 8,5
2	w	12 → 13,5 → 15
3	w	19,5
4	w	12 → 20 → 16,5
5	w	24 → 19,5 → 30
6	w	13
7	w	0
8	m	7,5
9	m	17,5
10	m	39,5
11	m	41
12	w	4 → 12,5 → 6 → 6 → 6
13	w	22,5 → 9,5
14	w	2,5 → 15
15	m	9,5 → 17,5
16	m	16
17	w	10,5
18	m	16 → 13,5
19	m	3,5 → 46,5
20	w	11 → 9,5
21	w	12 → 21 → 16,5
22	w	14,5 → 12,5 → 17,5

3. Vergleich der Ergebnisse der beiden Testsysteme

^{14}C -Thymin-Test/ Multitest Merieux

a. Statistik

Bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse im exakten Fischertest auf dem CDC- Computer Cyber 175 des Institutes für Med. Statistik des Klinikums rechts der Isar München, ergeben sich folgende Werte:

Tab. 5 Beurteilung aller Einzelmessungen aller Patienten nach pathol./normal

	^{14}C -Thymin-Test	Multitest Merieux	Gesamt
pathologisch	40	16	56
normal	9	31	40
Gesamt	49	47	96

Pathologisch bedeutet im ^{14}C -Thymin-Test $<80\% - 120\%>$

im MTM-Test männl. : < 15

weibl. : < 10

Bei der Fragestellung nach einem signifikanten Unterschied zwischen den Werten des ^{14}C -Thymin-Testes und denen des Multitest Merieux (MTM-Test) bei Beurteilung aller 96 Werte aller 22 Patienten nach pathologisch oder normal ergibt sich bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,01$, daß die Nullhypothese "Die Meßergebnisse sind für beide Tests gleich" abgelehnt werden muß (Fehlerquote $<1\%$).

Tab. 6 Beurteilung des Verlaufs der Testergebnisse aller 22 Patienten nach überwiegend pathol./normal

Verlauf der Ergebnisse	¹⁴ C-Thymidintest	Multitest Merieux	Gesamt
überwiegend pathologisch	16	4	20
überwiegend normal	4	13	17
Gesamt	20	17	37

Es besteht auch hier ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Testsystemen, wenn man den überwiegenden Verlauf der Testergebnisse aller 22 Patienten nach "überwiegend pathologisch" beziehungsweise "überwiegend normal" beurteilt.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit in diesem Fall beträgt $\alpha = 0,00091$ wiederum bei einer Fehlerquote von $<1\%$.

Tab. 7 Gegenüberstellung der ersten zwei Meßergebnisse aller 22 Patienten

1. Test/ 2.Test	¹⁴ C-Thymidin-test	Multitest Merieux	Gesamt
normal/normal	0	6	6
normal/patholog.	1	3	4
patholog./normal	1	4	5
patholog./patholog.	9	1	10
Gesamt	11	14	25

Wenn die ersten beiden Ergebnisse des Lymphozytentransformationstests mit den entsprechenden Ergebnissen des Hauttests (beurteilt wiederum nach pathologisch oder normal), verglichen werden, erhält man eine Signifikanz $\alpha = 0,00046$ (Fehlerquote $< 1\%$)

b. Grafischer Vergleich

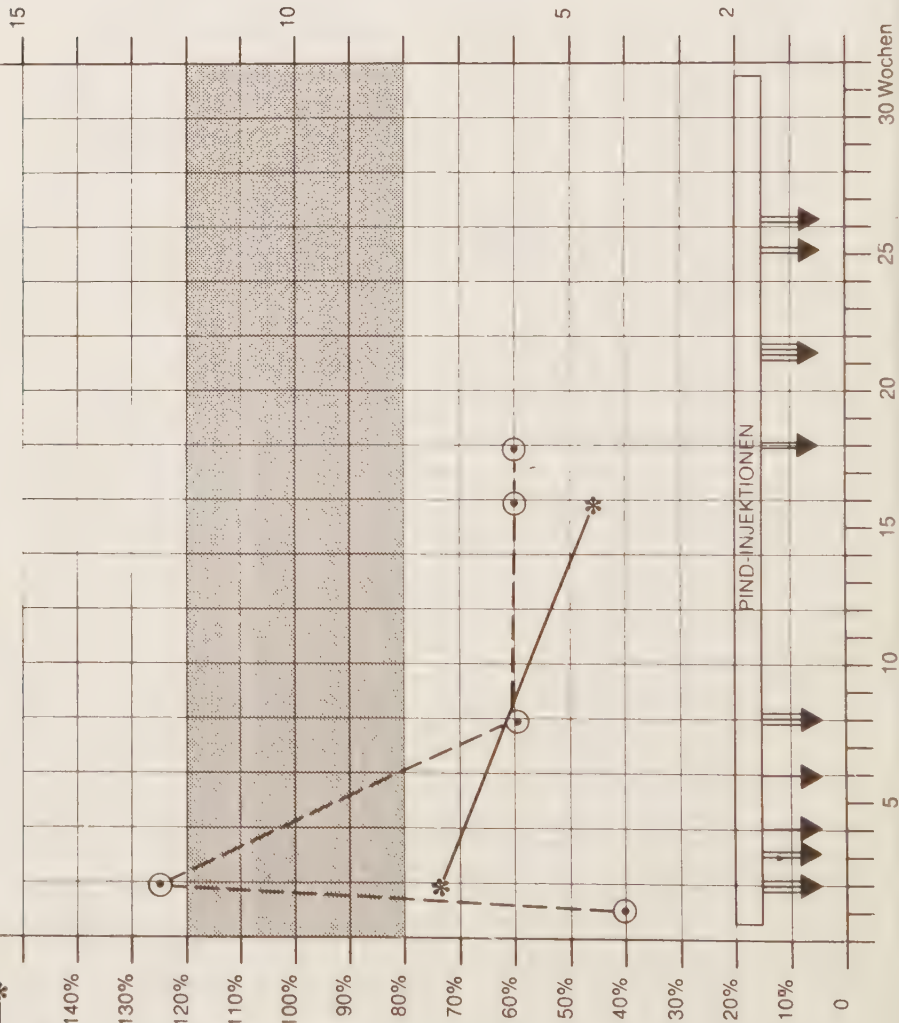
Auch in den nachfolgenden drei Grafiken wird deutlich, daß die Werte beider Testverläufe nicht miteinander verglichen werden können.

¹⁴C-Thymidintest *

Patient 12 Ch. H. 36 J. w.

Multitest Merneux

Transformations-
rate in %



Normal-
bereich

Score

normerg

hyperg

anerg

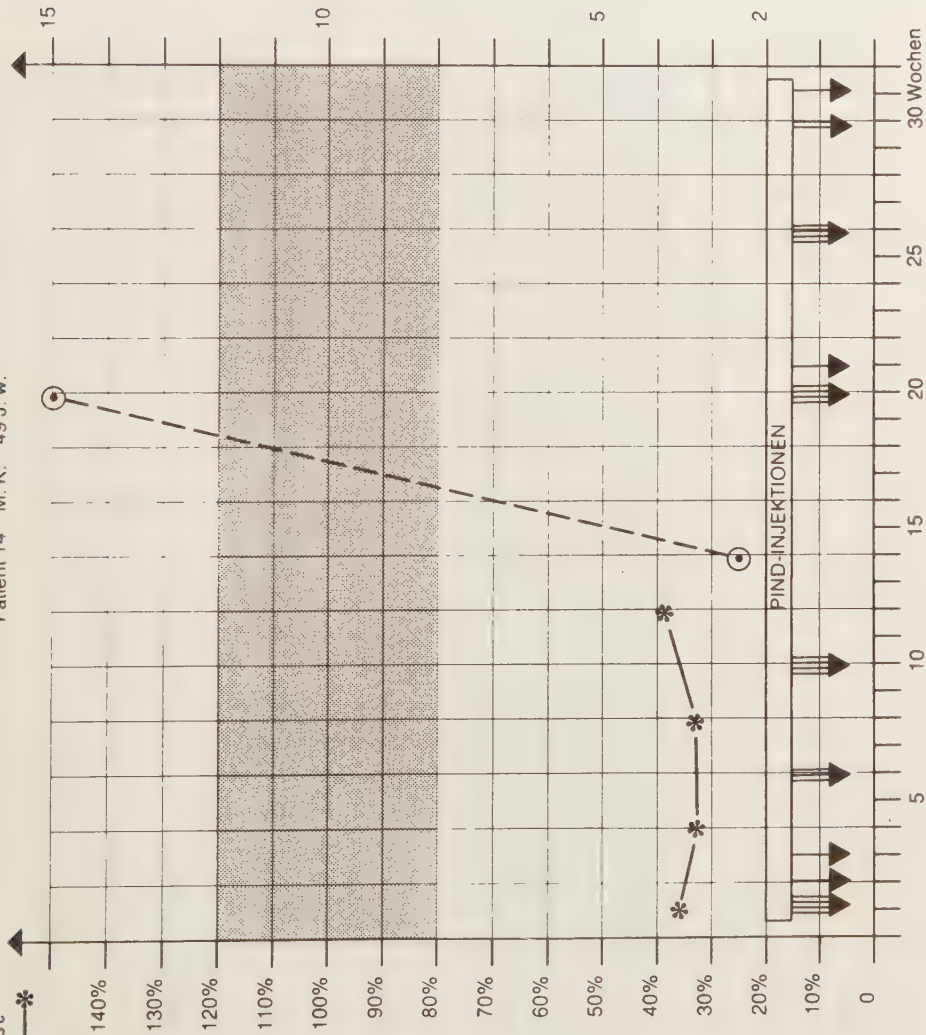
^{14}C -Thymidintest

Patient 14 M. K. 49 J. w.

Multitest Merieux

Transformations-
rate in %

Normal-
bereich



^{14}C -Thymidintest *

Patient 20 L. R. 55 J. w.

Transformations-
rate in %

140%

130%

120%

110%

100%

90%

80%

70%

60%

50%

40%

30%

20%

10%

0



Normal-
bereich

15

10

5

2

30 Wochen

25

20

15

10

5

Multitest Meneux

Score

normerg

hyperg

anerg

PIND-INJEKTIONEN

→

→

→

→

→

E. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die wesentlichen Träger der zellgebundenen Immunität bei Mensch und Tier sind die T-Lymphozyten. Klinisch kann sich diese Gewe-beimmunität im negativen Falle unter anderem durch allergische Hautreaktionen vom verzögerten Typ (delayed hypersensitivity, Allergie vom Spättyp) äußern. Voraussetzung für viele zellge-bundene Immunreaktionen ist eine Transformation von T-Lympho-zyten: ihre Reaktivität auf bestimmte Antigene, wie zum Beispiel die mitogene Zellantwort, gibt über den Funktionszustand des zellulären Abwehrsystems Auskunft und läßt sowohl fördernde wie auch hemmende oder schädigende Einflüsse auf die zelluläre Immunabwehr feststellen.

Bei den untersuchten Patienten handelt es sich um Malignom-Kranke mit therapiebedingter T-Zellsuppression (Chemotherapie, Röntgen, Corticosteroide, s. Tab. 3).. beziehungsweise Patienten mit Immunschwäche anderer Genese (Thyreoiditis de Quervain, Myasthenia gravis etc., s. Tab. 3), bei denen die Verabreichung des Paramunitätsinducers PIND-AVI, einem attenuierten, durch Gammastrahlen inaktivierten Avipoxvirus, fast immer zu einer Erholung der T-Zellreaktivität führte. Dies zeigte sich bei den Malignomerkrankten klinisch so, daß diese in den Intervallen zwischen den chemotherapeutischen Stoßbehandlungen nicht so anfällig für interkurrente Infekte waren, beziehungsweise diese schnell zur Abheilung gebracht werden konnten.

Um die zellulär-gewebliche Immunlage zu diagnostizieren, wurde die Kutanreaktion mit Recall-Antigenen (Multitest^R- Merieux) mit dem in-vitro-Test (Nachweis der Stimulierbarkeit isolierter T-Lymphozyten durch Messung der blastoiden Transformierbarkeit durch die Einlagerung von ¹⁴C- Thymidin) verglichen.

Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, daß es nicht möglich ist, den teuren und langwierigen in-vitro-Test mit ^{14}C -Thymidin durch den Multitest Merieux zu ersetzen beziehungsweise deren Werte zu vergleichen. Die Aussagekraft der Kutanreaktion ist durch verschiedene Faktoren, wie unterschiedlichen vorherigen Antigenkontakt verschiedener Patienten oder die Möglichkeit der anaphylaktoiden Reaktion ohne vorherige Sensibilisierung beeinträchtigt.

So ist je nach Berufsstand, Altersgruppe beziehungsweise epidemiologischer Situation einer Region die Reaktion auf die verschiedenen getesteten Antigene unterschiedlich zu erwarten.

Wegen der verschieden starken Exposition wird eine Reaktion auf Trichophyton-Antigen bei einem Landwirt eher zu erwarten sein als bei einem Großstädter. Ein Arzt wird aufgrund seines ständigen Kontaktes mit den unterschiedlichen Keimen deutlich stärker auf sämtliche Antigene reagieren als eine kinderlose Hausfrau.

Auch das Alter spielt eine Rolle. So zum Beispiel bei der Empfindlichkeit gegen Tuberkulin. Ein 60jähriger Patient wird wahrscheinlich erheblich deutlicher auf den Tuberkulintest reagieren als ein 25jähriger, der nie mit Tuberkuloseerregern in Berührung gekommen ist.

Außerdem kann die Reaktion auf die Antigene bei oder nach Vorliegen einer fieberigen Krankheit, nach Impfungen mit Lebendvakzinen, bei Behandlung mit Kortikosteroiden oder Immunsuppressiva vermindert sein beziehungsweise völlig fehlen. Umgekehrt kann man sich vorstellen, daß die Applikation von Paramunitäts-inducern wie PIND-AVI das Ergebnis in anderer Richtung beeinflussen könnte.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob es überhaupt möglich ist, all diese Eventualitäten bei der Auswertung zu berücksichtigen, so daß ein objektiv vergleichbarer beziehungs-

weise für die Therapie brauchbarer Wert zustandekommt.

Dieser Hauttest kann also, einzeln gesehen, keine vollständige Bewertung des Immunitätszustandes darstellen, wenngleich er auch in Einzelfällen als vorbereitende Maßnahme zur Durchführung des in-vitro-Tests gesehen werden kann.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Um eine zellulär-gewebliche Immundefizienz zu diagnostizieren, wurden zwei verschiedene Testsysteme, nämlich der Hauttest Multitest^R der Firma Merieux, bei dem die Kutanreaktion des Organismus auf 7 verschiedene, gleichzeitig in einem Stempel intradermal applizierte Recall-Antigene getestet wird, mit dem bewährten, aber langwierigen und teuren in- vitro-¹⁴C- Thymidintest, bei dem die blastoide Transformierbarkeit isolierter T-Lymphozyten nachgewiesen wird, verglichen.

Untersucht wurden 22 Patienten mit Immundefekten unterschiedlicher Genese (z.B. nach zytostatischer Chemotherapie), die alle mit dem T-Lymphozyten stimulierenden Paramunitätsinducer PIND-AVI, einem attenuierten, durch Gammastrahlen inaktivierten Avipox-Virus behandelt wurden. Die durch die PIND-AVI Behandlung zu erwartende Verbesserung beziehungsweise Normalisierung der T-Lymphozytenwerte (Mayr et al., 1979; Stickl und Mayr, 1979), die im ¹⁴C- Thymidintest nachweisbar war, konnte beim Multitest^R Merieux nicht gezeigt werden.

Dabei bestanden zwischen den beiden Testsystemen signifikante Unterschiede, nämlich erstens in der Beurteilung aller Einzelmessungen aller Patienten nach pathologisch beziehungsweise normal bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,01$, zweitens in der Beurteilung des überwiegenden Verlaufs der Testergebnisse nach überwiegend pathologisch beziehungsweise normal bei $\alpha = 0,00091$ und drittens bei der Gegenüberstellung der Meßergebnisse der ersten beiden Messungen der zwei Systeme mit $\alpha = 0,00046$. Somit muß die Nullhypothese: "Die beiden Testsysteme sind miteinander vergleichbar" abgelehnt werden.

Summary

On the diagnostic of immune-deficiency (cells and tissue): A comparison between cutaneous-reaction produced by recall-antigens (Multitest^R Merieux) and the sensivity of isolated T-lymphocytes (assayed through the measurement of deposited ¹⁴C-Thymidin during blastoid transformation)

Two different tests being used for the diagnosis of cell-mediated immunodeficiency have been compared; the skin-test Multitest^R Merieux, in which the delayed cutaneous hypersensitivity (DCH) of the organism to seven different antigens is simultaneously tested with a multipuncture instrument, and the lymphocyte-transformation-test, whose efficiency is already known but which has the disadvantage of being too slow and expensive. In this in-vitro-test the transformation of isolated lymphocytes is shown.

22 immunodeficient patients caused by different diseases (after cytostatic chemotherapy e.g.) have been treated with PIND-AVI, a T-lymphocyte stimulating parammunity-inducer which is an attenuated and by treatment with gamma rays inactivated avian Pox virus.

The so expected improvement or normalisation of the T- cell-stimulation (A. Mayr et al, 1979; H. Stickl and A. Mayr, 1979) which is easily seen in the lymphocyte-transformation-test did not occur in the skin-test Multitest^R Merieux.

There was a significant discrepancy between the two tests, not only as related to the valuation criteria "pathologic or normal" (concerning all single measures of all patients, $\alpha = 0,01$) but also as related to the valuation criteria "predominant pathologic or predominant normal" ($\alpha = 0,0091$) and also when we confront the first two results of the two tests with $\alpha = 0,00046$).

So we came to the conclusion that the two tests cannot be compared.

F. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Andersson J., G.M. Edelmann, G. Möller und O. Sjöberg (1972):
Activation of B-Lymphocytes by locally concentrated
Concavalin A
Eur. J. Immunol., 2, 233-235
2. Bibrack B. (1975)
Aktive Interferonisierung: eine neue Möglichkeit der Bekämpfung des Welpensterbens
Kleintierpraxis, 20, 258-269
3. Dürig M., M. Herberer und F. Harder (1982)
Technik und Bedeutung des Intrakutantestes mit Recallantigenen in der Allgemeinchirurgie
Der Chirurg, 53, 427-430
4. Eisele K.H. (1978)
Untersuchungen über die Phagozytosefähigkeit keimfreier Ratten gegenüber *Pseudomonas aeruginosa* und Erarbeitung eines Testverfahrens für die Kontrolle von prämunisierenden Substanzen bezüglich Steigerung der Phagozytoserate in der keimfreien Ratte
Vet. med. Diss., München
5. Greaves M.F. and S. Bauminger (1972)
Activation of T and B Lymphocytes by insoluble Phyto mitogens
Nature New Biol., 235, 67-70

6. Himmer B. (1978)
Prophylaxe bzw. Therapie bei *Pseudomonas aeruginosa*
Wundinfektionen durch Steigerung der nicht-erregerspezifischen Infektabwehr
Vet.med.Diss., München
7. Hungerford D.A., A.J. Donnelly, P.C. Nowell and S. Beck (1959)
The chromosome Constitution of a human phenotypic Intersex
Amer. J. Human Genet., 11, 215-236
8. Junge U., J. Hoekstra, L. Wolfe and F. Deinhardt (1970)
Microtechnique for quantitative Evaluation of "in vitro" lymphocyte Transformation
Clin. exp. Immunol., 7, 431-437
9. Kurschilgen E.M. (1969)
Vergleichende Tierversuche zur unspezifischen Wirkung der oralen Immunisierung mit Enteritis- erregenden Salmonellen
Diss., Med. Fakultät, Berlin
10. Leonhardt H. (1981)
Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen
G.Thieme Verlag, 171
11. Mayr A., (1978)
Kerninformation über PIND-AVI
Materialsammlung des Instituts für Medizinische Microbiologie, Infektions- und Seuchenmedizin
Tierärztliche Fakultät München

12. Mayr A. (1979)
Erfahrungen mit dem Paramunitätsinducer PIND-AVI in der
Tiermedizin
Kollegium Veterinarium 60, 35
13. Mayr A., P. Bachmann, B. Bibrack und G. Wittmann (1974)
Virologische Arbeitsmethoden
Bd. I, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
14. Mayr A. und M. Büttner (1984)
Neue Erkenntnisse über die Grundlagen der Paramunität und
Paramunisierung
BMTW, 97, 429-435
15. Mayr A. und K. Kalcher (1960)
Vergleichende Studien über die Züchtung von Geflügelpocken-
virus in der Zellkultur
Arch. Ges. Virusforschung, 10, 72
16. Mayr A. und M. Malicki (1966)
Attenuierung von virulentem Hühnerpockenvirus in Zellkul-
turen und Eigenschaften des attenuierten Virus
Zbl. Vet.Med., B., 13, 1
17. Mayr A., H. Raettig, H. Stickl und M. Alexander (1979)
Paramunität, Paramunisierung, Paramunitätsinducer
Teil 1. Geschichtliche Entwicklung, Begriffsbestimmung und
Wesen
Fortschr. Med., 97, 1159-1165
18. Mayr A. und J. Sailer (1977)
Neue Schwerpunkte bei der Bekämpfung von Infek-
tionskrankheiten
Wehrmed. Mschr., 21, 198

19. Mayr A., H. Stickl, M. Westhues, W. Gillesberger,
G. Schwarz und B. Bibrack (1977)
Therapie von Herpes Zoster durch aktive Prämunisierung
Fortschr. Med. 95, 2:87 und 3:119
20. Nowell P.A. (1960)
Phytohämagglutinin: an Indicator of Mitosis in Cultures of
normal human Leucocytes
Cancer Res., 20, 462
21. Pawlas S. (1979)
Untersuchungen zur Charakterisierung der Lymphozytenpo-
pulationen von Schwein und Rind
Vet. med. Diss., München
22. Phillips B. and I. Roitt (1973)
Evidence for Transformation of human B-Lymphocytes by PHA
Nature New Biol., 241, 254-256
23. Pospischill A. (1978)
Untersuchungen über die Wirksamkeit einer aktiven Prämu-
nisierung auf Wundinfektionen
Vet. med. Diss., München
24. Reubel G. (1983)
Gewinnung von Mediatoren aus Zellkulturen zur Stimulierung
der unspezifischen Infektabwehr (Paramunisierung)
Vet. med. Diss., München

25. Stickl H. (1977)
Indikationen zur Anwendung von "PIND", einem neuen
Paramunitätsinduktor
Vortrag Internat. Symp. der Dtsch. Gesellschaft für Infektio-
logie, Reissensburg bei Ulm
26. Stickl H. und A. Mayr (1979)
Über die Wirksamkeit eines neuen Paramunitätsinducers
(PIND-AVI) für Mensch und Tier
Fortschr. Med. 97, 1781-1788
27. Taylor R.B., P.H. Diffus, M.C. Raff (1971)
Redistribution and Pinocytosis of lymphocyte Surface immu-
noglobulin Molecules induced by antiimmunoglobulin Antibody
Nature New Biol., 233, 225
28. Westhues M. (1975)
Medikamentelle Einwirkungsmöglichkeiten bei Nasen-
nebenhöhlenerkrankungen (Bedeutung der Interferon-Induk-
tion)
Fortschr. Med. 93, 877
29. Westhues M. und A. Mayr (1975)
Das Prinzip der Interferon- Induktionsbehandlung und
klinische Ergebnisse
Arch. Ohren-, Nasen- und Kehlkopfheilk. 210,1
30. Witzigmann G. (1978a)
Erfahrungen mit einer aktiven Paramunisierung zur Prophylaxe der Crowding Disease bei der Kälber- und Bullenmast
Fortschr. Vet. Med. 28, 51

31. Witzigmann G. (1978b)

Weitere Erfahrungen mit einer aktiven Paramunisierung in
der Rinderpraxis

Prakt. Tierarzt 59, 765

Für die freundliche Übernahme der Dissertation an die Tierärztliche Fakultät München möchte ich herzlich Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr danken.

Herrn Prof. Dr. med. H. Stickl danke ich besonders für die Übernahme des Themas und das mir überlassene Auswertungsmaterial sowie die wohlwollende persönliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit im Rahmen seines Instituts.

Mein besonderer Dank für ihre hilfreiche, freundschaftlich unermüdliche Unterstützung beim Zustandekommen dieser Dissertation gilt Frau Ritter, Frau Schöninger und Herrn Dr. Harabacz vom Institut für Mikrobiologie und Hygiene der Technischen Universität München, Abteilung für Umwelthygiene und Impfwesen.

Herrn Schnabel vom Med. Institut für Statistik des Klinikums Rechts der Isar München bin ich sehr verbunden für seine Hilfe bei der Erstellung der statistischen Auswertung.

LEBENS LAUF

- 1954 Geboren am 26. Juli als erste Tochter des Ingenieurs
 Theo Sauer und seiner Ehefrau Anita geb. Mürmann in
 Dortmund
- 1960 Eintritt in die Volksschule
- 1965 Übertritt in das Gymnasium Starnberg
- 1975 Abitur
- 1976 Aufnahme des Studiums der Tiermedizin an der Ludwig-
 Maximilians-Universität in München
- 1981 verheiratet, eine Tochter
- 1983 Staatsexamen und Approbation als Tierärztin.
 Beginn der vorliegenden Dissertation im Institut für
 Mikrobiologie und Hygiene der Technischen Universität
 München, Abteilung für Umwelthygiene und Impfwesen
- 1984 zweite Tochter

